

NGHIÊN CỨU ĐẶC TÍNH PHÂN TỬ VIRUS NHƯỢC ĐỘC VACCINE VIÊM GAN VỊT TẠI VIỆT NAM QUA KHẢO SÁT CHUỖI GEN KHÁNG NGUYÊN VP1

Đoàn Thị Thanh Hương¹, Nguyễn Bá Hiên², Lê Thanh Hòa¹

¹Viện Công nghệ sinh học, Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam

²Trường Đại học Nông nghiệp Hà Nội, Bộ Giáo dục và Đào tạo

TÓM TẮT

Toàn bộ phần gen VP1 có độ dài 714 bp của 2 chủng virus nhược độc viêm gan vịt làm vaccine tại Việt Nam, ký hiệu VxXT và VxAC (lấy từ Ai Cập), được thu nhận bằng RT-PCR, tách dòng, giải trình tự và phân tích. Trình tự nucleotide và amino acid của VP1 từ 2 chủng này được so sánh với chuỗi gen VP1 của 12 chủng (vaccine và cường độc) của Trung Quốc và các chủng khác của thế giới. Kết quả cho thấy, chủng vaccine VxAC, tuy xuất xứ từ Ai Cập, có mức độ tương đồng cao với các chủng hiện có tại Trung Quốc; chủng VxXT có mức độ tương đồng cao với chủng HS (Hàn Quốc) và chủng DRL62 (ATCC, Mỹ). Phân tích phá hệ cho thấy, tất cả các chủng (kể cả VxXT và VxAC của Việt Nam) được phân chia thành 4 nhóm: I, II, III, IV, trong đó 3 nhóm I, III, IV bao gồm các chủng của Trung Quốc, nhóm II bao gồm chủng của Hàn Quốc (HS) và Mỹ (DRL62). Chủng VxAC có tại Việt Nam tập hợp cùng nhóm I của Trung Quốc, gồm các chủng vaccine và cường độc; chủng VxXT ở nhóm II cùng với chủng HS của Hàn Quốc và chủng DRL62 của Mỹ. Phân tích thành phần gen và phá hệ khẳng định, chủng VxAC từ Ai Cập có quan hệ gần gũi với các chủng Trung Quốc (nhóm I) từ đó có thể suy xét nguồn gốc xuất xứ của chủng này là từ Trung Quốc; chủng VxXT thuộc về nhóm của chủng HS (Hàn Quốc) và DRL62 (Mỹ) cho phép xác định chủng VxXT được đưa từ Hàn Quốc vào Việt Nam, nhưng trước đó chủng nhược độc vaccine này của Hàn Quốc có thể có nguồn gốc từ Mỹ.

Từ khóa: Gen VP1, kháng nguyên, phá hệ, Picornaviridae, vaccine, virus viêm gan vịt

ĐẶT VẤN ĐỀ

Viêm gan vịt là một bệnh truyền nhiễm cấp tính xảy ra với vịt con 1 - 6 tuần tuổi. Bệnh lây lan nhanh, tỷ lệ chết cao, có thể lên tới 100% toàn đàn (Fabricant, Levine, 2002). Virus gây bệnh viêm gan vịt là một loại RNA virus thuộc họ Picornaviridae, có 3 type khác nhau, bao gồm type I (DHV-1), type II (DHV-2) và type III (DHV-3), phổ biến hơn cả là virus viêm gan vịt type I (Fabricant, Levine, 2002; Wang *et al.*, 2008); virus type 2 và type 3 mới được tìm thấy ở Anh và Mỹ, gây bệnh với tỷ lệ chết không đáng kể (Woolcock, 2003). Hệ gen của virus viêm gan vịt chứa RNA sợi đơn dương, có độ dài thay đổi từ 7149 nucleotide, khoảng 7600 đến 7700 nucleotide và chứa duy nhất một khung đọc mở (open reading frame: ORF), bao gồm 3 tổ hợp gen, nằm ở vị trí từ nucleotide thứ 625 đến 7375, mã hóa cho một chuỗi polypeptide gồm 2249 amino acid gọi là *protein chung* (Ding, Zhang, 2007). Tổ hợp gen P1 mã hóa cho các loại protein cấu trúc là VP0, VP1, VP3. Tổ hợp gen P2 nối tiếp theo, mã hóa cho các loại protein không cấu trúc là 2A, 2B, 2C. Năm cuối cùng là tổ hợp gen P3, mã hóa cho các loại protein không cấu trúc bao gồm 3A, 3B, 3C và 3D (Krumbholz *et al.*,

2002; Kim *et al.*, 2006). VP1, trong tổ hợp gen P1, có độ dài 714 nucleotide, mã hóa cho protein cấu trúc VP1, vừa quyết định tính kháng nguyên, vừa quyết định tính gây bệnh của virus (Lê Thanh Hòa, 2006; Liu *et al.*, 2008).

Virus viêm gan vịt được phân lập lần đầu tiên cách đây 60 năm, được liệt kê thuộc họ Picornaviridae và virus này có nhiều đặc tính giống các loại virus thuộc chi *Enterovirus* (Woolcock, 2003). Tuy nhiên, các nghiên cứu trong vài năm gần đây về sinh học phân tử và vị trí phân loại đã đưa ra nhiều công bố mới và đề nghị xếp virus viêm gan vịt type 1 (DHV-1) vào một chi mới trong họ Picornaviridae (Kim *et al.*, 2006; 2007; Tseng, Tsai, 2007a; b; Ding, Zhang, 2007; Tseng *et al.*, 2007; Johansson *et al.*, 2007). Nghiên cứu mới của Wang và đồng tác giả (2008) đã đề xuất rằng, DHV-1 đã có đầy đủ cơ sở dữ liệu về gen học cho phép phân vào 3 genotype: Genotype A, B và C, trong đó genotype A bao gồm tất cả các DHV-1 cổ điển cho đến nay; genotype B và C bao gồm các chủng mới phân lập gần đây (2006 - 2008) ở Đài Loan và Hàn Quốc (Wang *et al.*, 2008).

Cho đến nay, chưa có một công bố nào về sinh

học phân tử gen và hệ gen của virus vaccine và cường độc viêm gan vịt tại Việt Nam. Do vậy, việc nghiên cứu tìm hiểu về gen/hệ gen và đặc tính phân tử trong phân loại virus viêm gan vịt tại Việt Nam là hết sức cần thiết. Trong bài báo này, chúng tôi giới thiệu toàn bộ chuỗi gen VP1 của virus viêm gan vịt nhược độc, ký hiệu VxXT và VxAC đang được sử dụng làm vaccine tại Việt Nam và so sánh với một số chủng của thế giới để xác định vị trí phân loại của 2 loại virus nhược độc này.

NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

Mẫu virus nhược độc

Một loại virus nhược độc viêm gan vịt là vaccine nhược độc sống đông khô hiện đang sử dụng tại Việt Nam do Xí nghiệp thuốc thú y Trung ương sản xuất, ký hiệu là VxXT.

Một loại khác là virus nhược độc viêm gan vịt từ Ai Cập, do Trường Đại học Nông nghiệp Hà Nội cung cấp, ký hiệu là VxAC.

Tách chiết RNA tổng số của hệ gen virus

RNA hệ gen của virus được tách chiết bằng bộ sinh phẩm QLAamp Viral Mini kit (QIAGEN Inc.) theo hướng dẫn của nhà sản xuất và bảo quản ở -20°C cho đến khi sử dụng.

Thiết kế mồi và thực hiện phản ứng RT-PCR

Cặp mồi dùng cho phản ứng RT-PCR thu nhận gen VP1, bao gồm: mồi xuôi DH3F: (5'-GCCCCACTCTATGGAAATTTG-3', tương ứng vị trí 2064 - 2084 trong hệ gen) và mồi ngược DH4R (5'-ATTTGGTACGATTCAATTTCC-3', tương ứng vị trí 2810 - 2830) (Ding, Zhang, 2007), cho sản phẩm RT-PCR khoảng 0,8 kb, chứa toàn bộ vùng gen VP1. Phản ứng RT-PCR được thực hiện một bước (one step) với cặp mồi DH3F – DH4R, theo chu trình nhiệt: $50^{\circ}\text{C}/30$ phút; $95^{\circ}\text{C}/15$ phút; 35 chu kỳ [$94^{\circ}\text{C}/15$ giây, $50^{\circ}\text{C}/30$ giây, $72^{\circ}\text{C}/90$ giây]; và chu kỳ cuối cùng ở $72^{\circ}\text{C}/8$ phút, sau đó bảo quản sản phẩm ở 4°C cho đến khi kiểm tra.

Kiểm tra sản phẩm RT-PCR, tinh sạch và tách dòng sản phẩm

Sản phẩm RT-PCR được kiểm tra trên thạch agarose 1%, được tinh sạch bằng bộ kit tinh sạch của BIONEER theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Sản phẩm RT-PCR của gen VP1 sau khi tinh sạch được

dòng hóa vào vector pCR2.1TOPO (Invitrogen Inc.) và chuyển nạp vào tế bào *E. coli* chủng DH5 α -T1 (Invitrogen). Vi khuẩn tái tổ hợp được chọn lọc và nuôi cấy trong môi trường LB lỏng, lắc 200 vòng/phút ở 37°C trong 16 - 20 h. Tế bào chứa DNA plasmid tái tổ hợp được thu bằng cách ly tâm 13.000 vòng/phút trong 1 phút. Sau đó DNA plasmid tái tổ hợp được tách chiết bằng bộ Plasmid Extraction Kit của hãng BIONEER.

Giải trình tự và phân tích số liệu

Phản ứng giải trình tự được tinh sạch bằng bộ kit DyeEx 2.0 Spin Kit (QIAGEN). Trình tự nucleotide của gen VP1 trong vector pCR2.1-TOPO tái tổ hợp, được giải trình tự trên máy ABI-3100 Avant Genetic Analyzer (Applied Biosystems) tại Phòng thí nghiệm trọng điểm Công nghệ gen, Viện Công nghệ sinh học. Chuỗi nucleotide được xử lý bằng chương trình SeqEd1.03, sau đó sắp xếp chuỗi và xử lý bằng chương trình AssemblyLIGN1.9 và hệ chương trình MacVector 8.2 (Accelrys Inc.) trên máy tính Macintosh. Các chuỗi nucleotide được so sánh, sắp xếp, đối chiếu và xử lý số liệu bằng chương trình GENEDOC2.5. Thành phần amino acid được thu nhận bằng cách sử dụng bộ mã của vi sinh vật bậc thấp (vi khuẩn) trong Ngân hàng gen thông qua chương trình GENEDOC2.5. Phân tích phá hệ bằng chương trình MEGA4.0 (Tamura *et al.*, 2007).

Chọn chuỗi và so sánh mức độ tương đồng trình tự nucleotide và amino acid

Chuỗi nucleotide gen VP1 của virus viêm gan vịt chủng VxXT và VxAC phân lập tại Việt Nam, được truy cập vào Ngân hàng gen (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) đối chiếu với các chủng đã được công bố, sử dụng chương trình BLAST. Các chuỗi gen VP1 của đại diện các chủng ở khu vực và thế giới được thu thập và so sánh về nucleotide và amino acid với VP1 của chủng VxXT và VxAC có tại Việt Nam.

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Kết quả tách chiết RNA tổng số, thu nhận gen VP1 và tách dòng sản phẩm

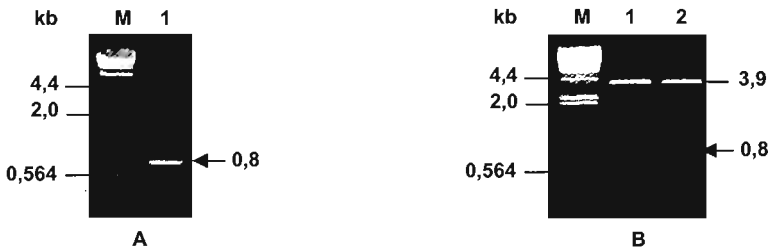
RNA tổng số sau khi tách chiết được sử dụng cho phản ứng RT-PCR để nhận vùng gen VP1 của hai mẫu virus vaccine với cặp mồi đặc hiệu và chu trình nhiệt đã được trình bày. Kết quả kiểm tra sản phẩm RT-PCR khi điện di trên thạch agarose 1% thể

hiện ở hình 1A cho thấy, đoạn DNA đặc hiệu có kích thước khoảng 0,8 kb phù hợp với kích thước vùng DNA chứa toàn bộ gen VP1 như dự kiến khi thiết kế môi, đã được thu nhận.

Sản phẩm PCR sau khi tinh sạch, được gắn vào vector tách dòng pCR2.1TOPO để tạo plasmid tái tổ hợp. DNA plasmid tái tổ hợp được cắt bằng enzyme hạn chế *EcoRI* để kiểm tra đoạn chèn VP1 khi điện di kiểm tra trên thạch agarose 1% (Hình 1B). Kết quả cho thấy, có hai băng sáng riêng biệt, kích thước 3,9 kb (ứng với kích thước vector pCR 2.1TOPO) và 0,8 kb (ứng với kích thước DNA gen VP1 sản phẩm của RT-PCR). Như vậy, vùng gen VP1 của virus

viêm gan vịt chủng VxXT và VxAC đã được giải vào lưu giữ trong vector tách dòng để giải trình tự.

Sau khi giải trình tự và phân tích chuỗi gen, chúng tôi đã thu được chuỗi nucleotide của gen VP1 ở chủng VxXT và VxAC, có độ dài là 714 bp, mã hóa cho 238 amino acid. Do VP1 là một phần trong hợp phần gen P1 của ORF mã hóa cho protein chung, nên phần gen VP1 không có bộ mã khởi đầu và bộ mã kết thúc (Liu *et al.*, 2008). Các chuỗi VP1 của 2 chủng VxXT và VxAC này được truy cập Ngân hàng gen bằng chương trình BLAST, kết quả cho thấy, các chủng này có mức độ tương đồng rất cao với các chủng virus viêm gan vịt nhược độc và cường độc của châu Á thuộc về type 1.



Hình 1. Điện di kiểm tra trên thạch agarose 1%. A. Sản phẩm RT-PCR (~0,8 kb) của vùng DNA chứa toàn bộ gen VP1 ; B. DNA plasmid tái tổ hợp, cắt bằng enzyme hạn chế *EcoRI*; M. Chỉ thị phân tử DNA của thực khuẩn thể λ được cắt bằng enzyme *HindIII*; 1. Dòng tái tổ hợp của chủng vaccine VxXT; 2. Dòng tái tổ hợp của chủng vaccine VxAC.

Phân tích biến đổi thành phần gen VP1 của virus viêm gan vịt chủng VxXT và VxAC Việt Nam

Mười hai chủng đại diện trong khu vực bao gồm chủng DHV1-HS (Hàn Quốc, DQ812094), DHV1-DRL-62 (Hàn Quốc, DQ219396), DHV1vac-ZJ-A2 (Trung Quốc, EF502172), DHV1-E53 (Trung Quốc, EF151313), DHV1-ZJ (Trung Quốc, EF382778), DHV1-vac (Trung Quốc, EU395440), DHV1vac-SH (Trung Quốc, EF502171), DHV1-C-NMG (Trung Quốc, EU621873) và DHV1-FS (Trung Quốc, EU395438), DHV1vac-ZJ-A (Trung Quốc, EF442072), DHV1vac-ZJ-A2 (Trung Quốc, EU395440), DHV1-SY6 (Trung Quốc, EF407862) và DHV1-ZI07-3 (Trung Quốc, EF502170) được thu thập để so sánh thành phần nucleotide và amino acid với 2 chủng vaccine VxXT và VxAC của Việt Nam. Kết quả so sánh trình tự nucleotide VP1 được trình bày ở hình 2 và amino acid ở hình 3.

Giữa hai chủng virus vaccine của Việt Nam (VxXT và VxAC), tỷ lệ đồng nhất đạt được chỉ là

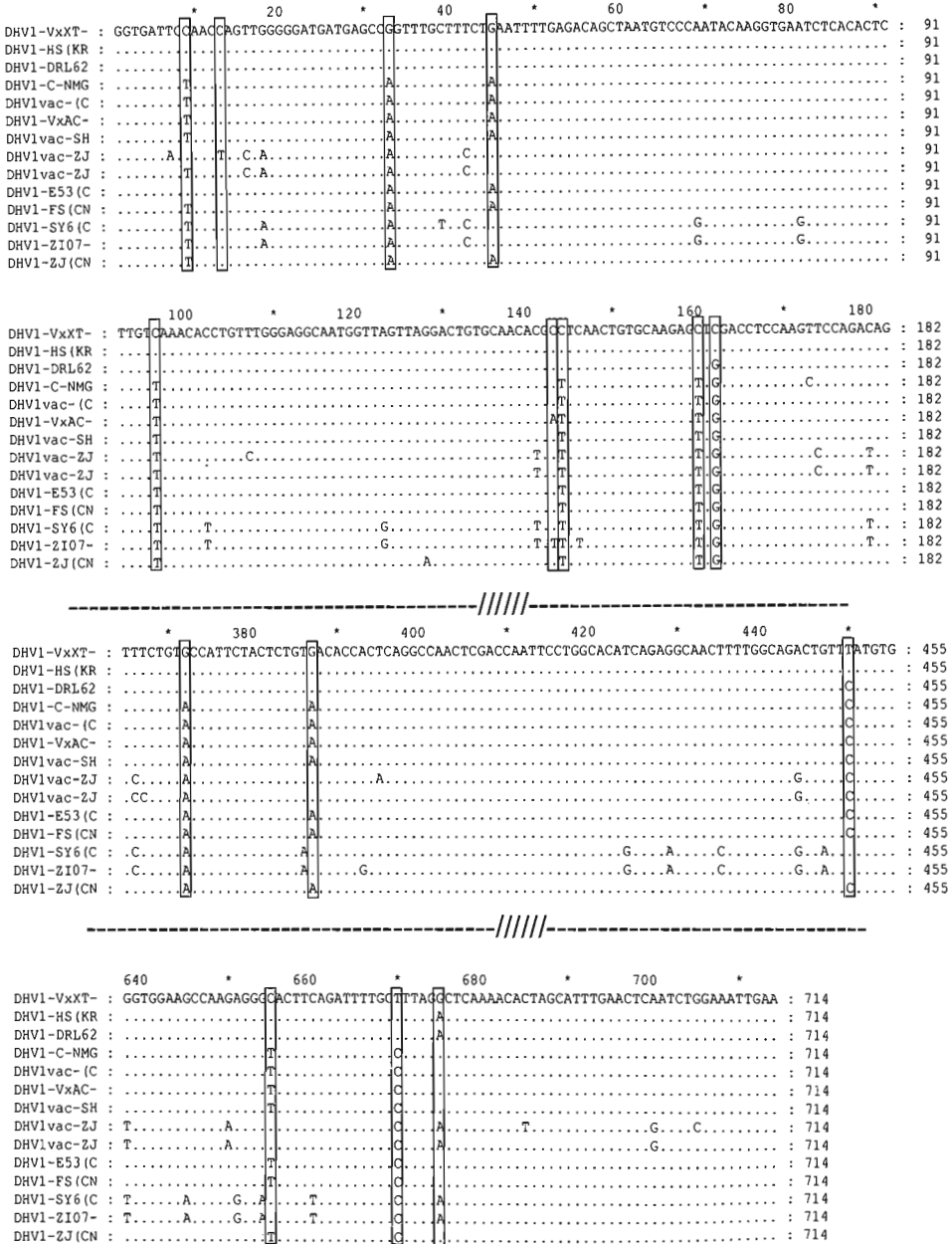
95% và có 29/714 vị trí sai khác về nucleotide (Hình 2), trong đó có 11 vị trí sai khác đã dẫn đến sự thay đổi về thành phần amino acid ở 9 vị trí (Hình 3).

Đối với chủng VxXT: chủng VxXT của Việt Nam có độ tương đồng thấp với các chủng của Trung Quốc (95%), trong khi lại có độ tương đồng rất cao với hai chủng của Hàn Quốc là DHV1-HS và DHV1-DRL-62 (99% về nucleotide và 98% về amino acid). Sự sai khác về amino acid cũng rất thấp với các chủng Hàn Quốc, điều đó cho thấy, chủng VxXT rất có thể là chủng có nguồn gốc xuất xứ từ Hàn Quốc được nhập vào Việt Nam để sử dụng.

Đối với chủng VxAC: So sánh với các chủng khác trên thế giới, chủng VxAC có tỷ lệ tương đồng rất cao với các chủng của Trung Quốc là DHV1-C-NMG, DHV1-vac, DHV1-SH, DHV1-E53 và DHV1-FS (99% về nucleotide và 98% về amino acid), thấp hơn so với các chủng của Hàn Quốc. Sự tương đồng cao như thế này của chủng Ai Cập với Trung Quốc cho phép nhận xét là chủng virus nhược

độc có từ Ai Cập này có thể có xuất xứ từ Trung Quốc, hoặc ngược lại. Tuy nhiên, nếu cho rằng các chủng của Trung Quốc có nguồn gốc từ Ai Cập thì chưa chính xác; mà chủng Ai Cập rất có thể được

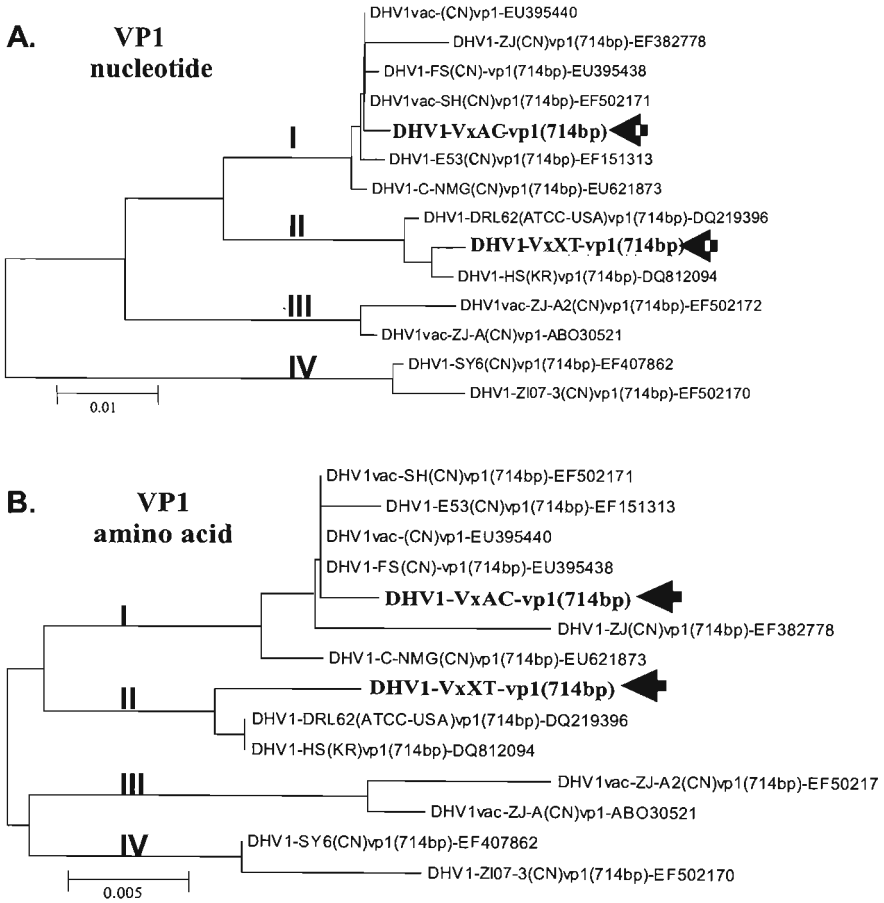
chuyển giao từ Trung Quốc, do Trung Quốc có một ngân hàng các chủng vaccine và cường độc viêm gan vịt lâu đời, hơn nữa, nuôi vịt gắn liền với truyền thống ở Trung Quốc và châu Á.



Hình 2. So sánh trình tự nucleotide VP1 (rút gọn để minh họa) của các chủng vaccine viêm gan vịt VxXT (dòng trên cùng) và VxAC (dòng thứ 6) với các chủng khác trên thế giới. Ghi chú: Dấu (.) biểu thị sự giống với trình tự nucleotide với chủng VxXT. Sự sai khác về nucleotide được thể hiện bằng các chữ cái ký hiệu của chúng (các vị trí chủ yếu, được đóng khung

Kết quả phân tích phá hệ một lần nữa khẳng định chủng VxAC có quan hệ gần gũi với các chủng Trung Quốc (nhóm I) từ đó có thể suy xét nguồn gốc xuất xứ của chủng này. Đối với chủng VxXT, thuộc về nhóm II đó là tập hợp của chủng HS (Hàn Quốc) và DRL62 (ATCC, Mỹ), từ đó cho phép xác định, chủng VxXT được đưa từ Hàn Quốc vào Việt Nam, nhưng chủng HS của Hàn Quốc có nguồn gốc từ Mỹ (Hình 4).

Bốn chủng khác của Trung Quốc (DHSV1vac-ZJ-A và DHSV1vac-ZJ-A2; DHSV1-SY6 và DHSV1-ZI07-3); hoàn toàn tách riêng thành 2 nhóm riêng biệt. Điều này cho phép phán đoán, hoặc là các chủng thuộc 2 nhóm này không có nguồn gốc nội sinh tại Trung Quốc mà do chuyển nhập từ nơi khác vào; hoặc là của Trung Quốc, nhưng rất có thể không cùng genotype với các chủng thuộc nhóm I của Trung Quốc.



Hình 4. Phân tích mối quan hệ phá hệ và nguồn gốc giữa chủng VxXT và VxAC Việt Nam với các chủng châu Á trên cơ sở cây phá hệ sử dụng chương trình MEGA4.0 tính toán bằng NJ (Neighbor-Joining) với giá trị 1000 lần bootstrap cho NJ (Tamura *et al.*, 2007). Cuối của ký hiệu các chủng thể giới là số đăng ký Ngân hàng gen của chủng đó. Mũi tên chỉ dẫn các chủng vaccine VxXT và VxAC của Việt Nam.

KẾT LUẬN

So sánh trình tự nucleotide và amino acid gen VP1 và phân tích quan hệ phá hệ nguồn gốc một số

chủng virus nhược độc viêm gan vịt tại Việt Nam cho thấy:

Hai chủng nhược độc viêm gan vịt đang làm vaccine tại Việt Nam trong nghiên cứu này là các chủng được nhập từ bên ngoài vào;

Chủng VxAC được đưa vào Việt Nam từ Ai Cập, nhưng có thể nguồn gốc xuất xứ của chủng này là từ Trung Quốc;

Chủng VxXT sử dụng tại Việt Nam có mức độ tương đồng cao với các chủng Hàn Quốc và Mỹ, có thể, tuy là chủng nhập từ Hàn Quốc, nhưng trước đó chủng này có thể có nguồn gốc xuất xứ từ Mỹ do Hàn Quốc đưa vào để sử dụng;

Việc khảo sát quan hệ gen/hệ gen của một số chủng cường độc viêm gan vịt phân lập tại Việt Nam với các chủng vaccine đang được tiến hành.

Lời cảm ơn: Chúng tôi cảm ơn Viện Công nghệ sinh học cấp kinh phí để tài cơ sở và Phòng Thí nghiệm trọng điểm Công nghệ gen, Viện Công nghệ sinh học hỗ trợ trang thiết bị để thực hiện công trình này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Ding C, Zhang D (2007) Molecular analysis of duck hepatitis virus type 1. *Virology* 361: 9-17.

Fabricant J, Levine PP (2002) Duck virus hepatitis. In *Diseases of Poultry*, (9th Ed), Iowa State University Press, Ames, Iowa, USA.

Johansson S, Niklasson B, Tesh RB, Shafren DR, Travassos da Rosa AA, Kim MC, Kwon YK, Joh SJ, Kim SJ, Tolf C, Kim JH, Sung HW, Lindberg AM, Kwon JH (2007) Recent Korean isolates of duck hepatitis virus reveal the presence of a new geno- and serotype when compared to duck hepatitis virus type 1 type strains. *Arch Virol* 152(11): 2059-2072.

Kim MC, Kwon YK, Joh SJ, Lindberg AM, Kwon JH, Kim JH, Kim SJ (2006) Molecular analysis of duck

hepatitis virus type 1 reveals a novel lineage close to the genus *Parechovirus* in the family Picornaviridae. *J Gen Virol* 87: 3307-3316.

Krumbholz A, Dauber M, Henke A, Birch-Hirschfeld E, Knowles NJ, Stelzner A, Zell R (2002) Sequencing of porcine enterovirus groups II and III reveals unique features of both virus groups. *J Virol* 76: 5813-5821.

Lê Thanh Hòa (chủ biên) (2006) *Y - Sinh học phân tử (Quyển I)*. Nhà xuất bản Y học, Hà Nội.

Liu G, Wang F, Ni Z, Yun T, Yu B, Huang J, Chen J (2008) Genetic diversity of the VP1 gene of duck hepatitis virus type I (DHV-I) isolates from southeast China is related to isolate attenuation. *Virus Res* 137(1): 137-141.

Tamura K, Dudley J, Nei M, Kumar S (2007) MEGA4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) software version 4.0. *Mol Biol Evol* 24: 1596-1599.

Tseng CH, Knowles NJ, Tsai HJ (2007) Molecular analysis of duck hepatitis virus type 1 indicates that it should be assigned to a new genus. *Virus Res* 123(2): 190-203.

Tseng CH, Tsai HJ (2007a) Molecular characterization of a new serotype of duck hepatitis virus. *Virus Res* 126: 19-31.

Tseng CH, Tsai HJ (2007b) Sequence analysis of a duck picornavirus isolate indicates that it together with porcine enterovirus type 8 and simian picornavirus type 2 should be assigned to a new picornavirus genus. *Virus Res* 129(2): 104-114.

Wang L, Pan M, Fu Y, Zhang D (2008) Classification of duck hepatitis virus into three genotypes based on molecular evolutionary analysis. *Virus Gene* 37(1): 52-59.

Woolcock PR (2003) Duck hepatitis. In: Saif YM, Barnes HJ, Glisson JR, Fadly AM, McDougald LR, Swayne DE (Eds.), *Diseases of Poultry*, 11th ed. Iowa State Press, Ames, IA: 343-354.

MOLECULAR CHARACTERIZATION OF THE ATTENUATED DUCK HEPATITIS VIRUS STRAINS USED AS VACCINE IN VIETNAM BASED ON THE ANTIGENIC SEQUENCE OF VP1

Doan Thi Thanh Huong¹, Nguyen Ba Hien², Le Thanh Hoa^{1,*}

¹Institute of Biotechnology, Vietnam Academy of Science and Technology

²Hanoi University of Agriculture, Ministry of Education and Training

SUMMARY

The entire sequence of 714 bp responsible for coding of the antigenic VP1 gene from two attenuated duck hepatitis virus strains used as vaccine in Vietnam, designated as VxXT and VxAC (from Egypt), was obtained using RT-PCR, then cloned, sequenced and analyzed. Nucleotide and amino acid sequences from these two

* Author for correspondence: Tel/Fax: 84-4-37567297; E-mail: imibtvn2@gmail.com

strains were aligned with the VP1 sequence collected from 12 strains (vaccine and virulent) of China, and other countries. As results, the VxAC strain, although from Egypt, has high identity (nucleotide) and homology (amino acid) to the current strains in China; the VxXT strain has identity/homology to the HS (Korea) and DRL62 (ATCC, USA). Phylogenetic analysis revealed that all the strains studied fall into 4 groups: I, II, III, IV, among which 3 groups contains the Chinese strains (groups I, III, IV); and one group (II) includes the Korean HS and the American DRL62. The VxAC used in Vietnam was clustered with those in group I of China origin (vaccine and virulent); and the VxXT is placed into group II with the HS (Korea) and DRL62 (USA) strains. Genetic and phylogenetic analyses confirmed that the VxAC having close genetic relation to the Chinese group I is inferred as to be originated from China. The VxXT belonging to the group of the Korean HS and DRL62 (USA) strains indicates that this vaccine strain used in Vietnam might be imported from Korea, hence before, however, the attenuated vaccine strains in Korea may be originated from the United States.

Keywords: *Antigen, duck hepatitis virus, phylogenetic analysis, Picornaviridae, vaccine, VP1 gene*